

平成 21 年 5 月 15 日現在

研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19550130
 研究課題名（和文） 水中計測を実現するロタキサン型イオン・糖認識プローブの開発
 研究課題名（英文） Development of Rotaxane-Based Probes for Ions and Saccharides in Water
 研究代表者
 鈴木 巖 (SUZUKI IWA0)
 東北大学・大学院薬学研究科・准教授
 研究者番号：30226493

研究成果の概要：水中でのイオンや糖の量を簡便に計測するためのシステムを開発することを主眼とし、水溶液の中で自己集合的に形成される超分子（分子が一定の秩序を持ち、集合したもの）型プローブを開発した。イオンについてはカリウムイオンに選択性を示すものを、また糖についてはグルコースやガラクトースに対する選択性を示すものを得ることができ、それらの量を蛍光の変化で計測することに成功した。さらに、超分子の形成と蛍光の信号変化が生じる機構を解明した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・機能物質化学

キーワード：分子認識・超分子・蛍光・シクロデキストリン・クラウンエーテル・ボロン酸

1. 研究開始当初の背景

分子認識を行う際に蛍光や紫外可視吸収の大きな変化をもたらす、いわゆる化学センサーに関する研究は、1980年代以降非常に活発に行われている。しかしながら、そのほとんどの研究例は有機溶媒中のものであった。例外的に水中でもある程度の結合力を発揮する配位結合を利用した遷移金属イオンに対する化学センサーは多数ある。しかし、それ以外のアルカリ金属イオンや無機アニオン、さらに糖といった高い親水性を示す分子・イオンに対する化学センサーはほとんど

ない。これは、分子認識の主たる駆動力として水素結合や静電的相互作用を利用するためであり、これらの比較的強い相互作用は水中では著しく弱くなるため、水中で機能する化学センサーの開発は未踏の領域といっても過言ではない。他方、われわれが計測対象としたいのは、主として生体内や環境中の分子・イオンの量であり、これらはほとんどが水中での計測を必要とする。

そこで本研究では、水中で機能する化学センサーを開発するために、超分子の概念を導入し、分子認識部位の集積による認識力の向

上・改変と、ダイナミックな構造変化による大きな信号変化を行うプローブの開発を行うこととした。

2. 研究の目的

本研究の目的は、背景の欄にも記載した通り、水中で分子やイオンを認識し、その認識情報を効率良く蛍光などの分光信号や電気化学信号に変換する化学センサーを開発することにある。化学センサーの開発では、分子認識を行いうる部位（分子認識素子）の結合力を高めるために、剛直な構造のホスト分子を設計することが一般的である。一方、大きな信号変化を引き起こすためには、大きな構造変化が必要となる。剛直な構造を持つ分子認識素子を基盤とする化学センサーでは、対象となるゲスト結合時の大きな構造変化が期待できないため、得られる分光信号変化はあまり大きくないことが多い。これに対し、分光信号変化を大きくするために柔軟な構造とすると、今度は分子認識力の低下が起こりやすい。

そこで、この二律背反に近い認識力と大きな信号変化を実現するために、超分子の概念を利用することとした。超分子は複数の分子が自己集散的に集積し、一定の秩序構造を得たものである。そして、種々ある超分子の中で、ロタキサンや擬ロタキサンに着目した（図1）。このロタキサン型ホストでは、予め形成されている（擬）ロタキサンがゲスト分子を認識する際に、大きな構造変化をもたらすことを期待するものであり、分子認識力については、複数の分子認識部位を集積させることで、強い結合力を期待するものである。

この概念に基づき、研究代表者は炭酸水素イオンやグルコースに対する超分子型化学センサーの開発に成功している。いずれもロタキサンの「珠」として、水中でアルキル基と安定な包接化合物を形成するシクロデキストリン（CD）誘導体を利用している。本研究ではその結果を基に、アルカリ金属イオンと糖、および無機イオンに対するロタキサン型化学センサーの開発を行った。

3. 研究の方法

(1) アルカリ金属イオンに対する化学センサーの開発については、擬ロタキサンの「珠」としてピレン修飾 CD、「軸」としてクラウンエーテル誘導体を用いた。この両者を水中で混合すると、擬ロタキサン型の包接化合物が形成される。この擬ロタキサンにより、アルカリ金属イオンの蛍光検出を目指した。

(2) 糖に対する化学センサーの開発については、擬ロタキサンの「珠」としてフェニルボロン酸修飾 CD、「軸」として蛍光色素であるスチリルピリジニウム（SP）色素を1つあるいは2つ持つ分子を用い、フェニルボロン酸

残基の複数の集積による糖センサーの高機能化を目指した。

またボロン酸は二分子あるとグルコースを選択的に認識することが知られているので、ボロン酸残基を導入したアゾ色素二分子を包接できる γ -CD との超分子系についての検討も行った。

(3) 無機アニオンに対する化学センサーの開発については、擬ロタキサンの「珠」としてペリレン修飾 CD、「軸」としてアルキル化尿素化合物を用いた検討を行った。

(4) ピレン修飾 CD / クラウンエーテル複合体の系を用い、擬ロタキサンからロタキサンへの変換反応の検討も併せて行った。

4. 研究成果

(1) ピレン修飾 CD とアルキル化ベンゾ-18-クラウン-6 エーテルの複合体は、水中で自己集散的に非常に安定な擬ロタキサンを形成し、ピレン残基由来の蛍光が著しく消光された。蛍光と NMR による詳しい検討の結果、「珠」のピレン残基と「軸」のベンゾクラウン残基の間に π - π 相互作用の存在し、このためにピレン蛍光の著しい消光が起こっていることが明らかになった。ここに K^+ を添加すると、ベンゾ-18-クラウン-6 環に K^+ が認識され、 π - π 相互作用に加えてカチオン- π 相互作用も働き、ピレン修飾 CD / ベンゾクラウン誘導体 / K^+ の三元包接化合物が形成された。この際にピレン蛍光は大きく回復し、水中で K^+ の定量が可能になる、発蛍光型の化学センサーとして機能することが明らか

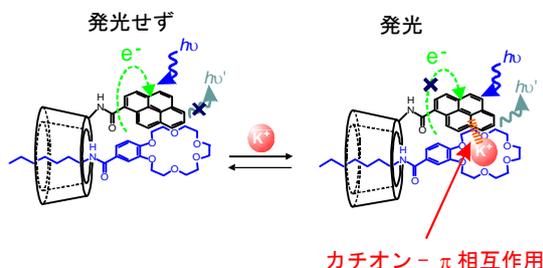


図2 ピレン修飾シクロデキストリン/ベンゾクラウン 複合体によるカリウムイオンの蛍光検出の模式図

になった（図2）。 K^+ の定量範囲は 5~1000 mM であった。

(2) フェニルボロン酸修飾 CD とアルキル化 SP 色素の複合体は中性水溶液中でグルコースに対する高い応答を示すが、その応答機構は不明であった。そこで、その応答機構の解明を行い、フェニルボロン酸修飾 CD（ボロン酸残基が糖を認識する際に負電荷が生じる）と SP 色素（正電荷を持つ）との間の静電的相互作用と、糖を結合した時のフェニルボロン酸修飾 CD と SP 色素との間の立体障害による複合体形成抑制のバランスによってグルコースに対する高い応答を示すこ

とが明らかになった。

この結果より、複数のボロン酸残基を効果的に糖認識に組み込むことで、グルコースやガラクトース、さらには糖鎖の基本単位であるグリコシド糖の認識にも応用ができる擬ロタキサン型化学センサーの構築が可能になると考えられた。実際に、SP 残基を 2 個有する「軸」とフェニルボロン酸修飾 CD の複合体はガラクトース共存下で 1 : 1 から 1 : 2 のモル比の擬ロタキサン型包接化合物に変化し、この構造変化に基づく著しい蛍光増大を示した。詳しい検討の結果、二分子のフェニルボロン酸修飾 CD が一分子のガラクトースを認識することで、「軸」と「珠」が 1 : 2 のモル比の強蛍光性の擬ロタキサンとなることがわかった(図 3)。すなわち、擬ロタキサン型の構造とすることで、ガラクトースが二分子のフェニルボロン酸と容易に複合体を形成し、ガラクトースに対する化学センサーを構築できた。

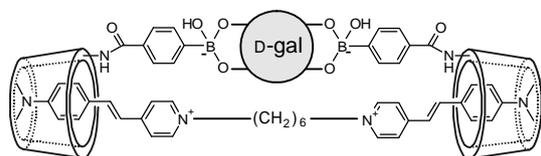


図3 フェニルボロン酸修飾シクロデキストリン / 二官能性 SP 色素によるガラクトース(D-gal)認識の模式図

一般にボロン酸は糖鎖の構成単位となっているグリコシド糖への親和性が低く、従ってグリコシド糖に対する化学センサーはボロン酸誘導体では不可能であると考えられている。しかし、フェニルボロン酸修飾 CD / SP 色素複合体系は、一般のボロン酸誘導体が高い応答を示さないガラクトースに対する高い応答を示したことから、グリコシド糖に対する検討を行ったところ、感度は低いものの、ガラクトピラノシドに対する選択性を示すことも判明した。

フェニルボロン酸を結合させたアゾ色素は水中で γ -CD と 1 : 1 のモル比の包接化合物を形成する。この複合体はグルコース共存下では、1 : 2 のモル比の複合体に変化し、本系がグルコースの選択的なホストとなることを明らかにした。グルコースによって誘起される 1 : 1 から 1 : 2 への構造変化に伴い、円二色性スペクトル上に特徴的なスペクトル変化が生じ、グルコースに対する選択的な化学センサーとしての機能も併せ持つこともわかった。

(3) ペリレン修飾 CD はアルキル化尿素との擬ロタキサン型複合体を形成し、その際に蛍光強度の変化が確認できた。しかしながら、その強度変化は小さく、「軸」や「珠」を変えて種々検討を試みたものの、改善が見込めなかったため、無機アニオンに対する化学セ

ンサーの構築は断念した。

(4) (1) でピレン修飾 CD / ベンゾクラウン複合体は水中で機能する優れた K^+ 選択的の化学センサーであることを明らかにしたが、擬ロタキサン型であるため、実用の観点から、ホスト形成が化学平衡に依存しないロタキサンへの変更を模索した。擬ロタキサンからロタキサンへの変換にはストッパーを導入する必要がある。種々検討した結果、アルキル化ベンゾクラウンの末端にエチニル基を導入し、ピレン修飾 CD との擬ロタキサンを形成させた後、アジ化グルコースとのカップリング反応によりストッパーの導入が図れることが示唆された。しかしながら、カップリング反応は極めて低収率 ($\sim 0.5\%$) であり、構造確認および化学センサーとしての機能評価には至らなかった。現在、収率の向上を図っている。

以上、本研究ではアルカリ金属イオン (K^+) や、糖 (グルコースおよびガラクトース) に対する擬ロタキサン型化学センサーの開発に成功した。水中での K^+ を検出できる化学センサーは希少であり、また、ガラクトースに高い応答を示す化学センサーは、研究代表者の知る限りでは初めてのものである。また、擬ロタキサン型とすることで、従来のボロン酸誘導体による化学センサーでは困難であったグリコシド糖、特にガラクトピラノシドに対する選択性を持つ化学センサーを構築することができた。感度的には満足すべきものではないが、今後の検討次第では糖鎖の認識にも応用が可能な化学センサーの構築も期待できる。また、擬ロタキサンからロタキサンへの変換反応の効率を上げることができれば、実用の観点での大きなインパクトとなろう。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① Chie Shimpuku, Rimiko Ozawa, Akira Sasaki, Fuyuki Sato, Takeshi Hashimoto, Akiyo Yamauchi, Iwao Suzuki, and Takashi Hayashita, Selective Glucose Recognition by Boronic Acid Azoprobe/ γ -cyclodextrin Complexes in Water, *Chem. Commun.*, **2009**, 1709-1711, 査読有。
- ② Rimiko Ozawa, Takeshi Hashimoto, Akiyo Yamauchi, Iwao Suzuki, Bradly D. Smith, and Takashi Hayashita, Effect of Cyclodextrins on Saccharide Sensing Function of a Fluorescent Phenylboronic Acid in Water, *Anal. Sci.*, **24**, 207-212 (2008), 査読有。

- ③ Rimiko Ozawa, Takashi Hayashita, Takahiro Matsui, Chiaki Nakayama, Akiyo Yamauchi, and Iwao Suzuki, Effects of cyclodextrins and saccharides on dual fluorescence of *N,N*-dimethyl-4-aminophenylboronic acid in water, *J. Inclusion Phenom.*, **60**, 253-261 (2008), 査読有.
- ④ Iwao Suzuki, Chiaki Nakayama, Mihoko Ui, Kazuaki Hirose, and Akiyo Yamauchi, Greater Fluorescence from Strylpyridinium Dye upon Complexation with Cyclodextrin Derivatives through $\pi - \pi$ Interaction, *Anal. Sci.*, **23**, 249-252 (2007), 査読有.
- ⑤ Iwao Suzuki, Akiyo Yamauchi, Yoshiko Sakashita, Kazuaki Hirose, Takashi Miura, and Takashi Hayashita, Fluorescence Response Mechanism of D-Glucose Selectivity for Supramolecular Probes Composed of Phenylboronic-acid-modified β -cyclodextrin and Strylpyridinium Dyes, *Anal. Sci.*, **23**, 1167-1172 (2007), 査読有.
- ⑥ 鈴木 巖, ホスト-ゲスト超分子による精密分子認識, *ぶんせき*, **2007**, 341-347 (2007), 査読有.

[学会発表] (計 10 件)

- ① 梅津つかさ・山内晶世・鈴木巖, フェニルボロン酸修飾シクロデキストリンを利用した超分子化合物による糖認識, 第 47 回日本薬学会東北支部大会, 2008 年 10 月 26 日, 岩手医科大学薬学部.
- ② 松井貴弘・鈴木雄也・山内晶世・鈴木巖, シクロデキストリン-クラウンエーテル複合体による超分子型カリウムイオン検出プローブ, 第 47 回日本薬学会東北支部大会, 2008 年 10 月 26 日, 岩手医科大学薬学部.
- ③ 梅津つかさ・鈴木巖, フェニルボロン酸修飾シクロデキストリンの包接化合物形成を利用したガラクトース応答性超分子型蛍光プローブ, *みちのく分析科学シンポジウム 2008*, 2008 年 7 月 19 日, 東北大学工学部青葉記念会館.
- ④ 新福千枝・佐々木彰・小澤りみ子・橋本剛・鈴木巖・早下隆士, グルコース識別機能を有するボロン酸型アゾプローブ/シクロデキストリン複合体センサーの開発, 第 3 回ホスト・ゲスト化学シンポジウム, 2008 年 5 月 31 日, 上智大学四ツ谷キャンパス.
- ⑤ 鈴木巖・梅津つかさ・坂下佳子・山内晶世・早下隆士, グルコースおよびガラクトースに応答する超分子型蛍光プローブ,

第 3 回ホスト・ゲスト化学シンポジウム, 2008 年 5 月 31 日, 上智大学四ツ谷キャンパス.

- ⑥ 鈴木巖, 超分子型蛍光プローブによる分子・イオン認識, 日本薬学会第 128 年会, 2008 年 3 月 27 日, パシフィコ横浜
- ⑦ 鈴木巖, 化学修飾シクロデキストリンの超分子形成を利用した分子・イオン認識プローブの開発, 日本分析化学会第 56 年会, 2007 年 9 月 19 日, 徳島大学常三島キャンパス
- ⑧ 鈴木巖・鈴木雄也・中山千晶・山内晶世・早下隆士, シクロデキストリンの包接化合物形成を利用するイオン認識蛍光プローブ, 第 25 回シクロデキストリンシンポジウム, 2007 年 9 月 11 日, 鳥取県民文化会館.
- ⑨ 早下隆士・藤田なつみ・新福千枝・小澤りみ子・橋本剛・山内晶世・鈴木巖, シクロデキストリン複合体を用いる超分子センサーの設計, 第 2 回ホスト・ゲスト化学シンポジウム, 2007 年 5 月 25 日, 大阪市立大学学術情報総合センター.
- ⑩ 鈴木巖・山内晶世・伊勢勇氣・田中洋充, 修飾シクロデキストリンの錯形成を利用した CBr- π 相互作用の探索, 第 2 回ホスト・ゲスト化学シンポジウム, 2007 年 5 月 25 日, 大阪市立大学学術情報総合センター.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 巖 (SUZUKI IWAO)
東北大学・大学院薬学研究科・准教授
研究者番号: 30226493

(2) 研究分担者

山内 晶世 (YAMAUCHI AKIYO)
東北大学・大学院薬学研究科・助教
研究者番号: 70361110

(3) 連携研究者

なし